

Изучение антикаталептической активности гимантана при различных путях введения и в комбинации с леводопой

Е.А. Иванова, А.В. Непоклонов, И.И. Кокшенев, И.Г. Капица,
Т.А. Воронина, Е.А. Вальдман

НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, Москва

Контактная информация: Елена Артуровна Вальдман evaldman@m9com.ru

На модели галоперидоловой каталепсии у крыс изучена антикаталептическая активность нового противопаркинсонического препарата гимантана при внутривенном введении и в комбинации с леводопой. Установлено, что гимантан при внутривенном введении оказывает выраженный эффект в дозе 5 мг/кг. Комбинированное применение гимантана с леводопой приводит к усилению эффекта леводопы.

На модели акинетического состояния, вызванного введением низкой дозы галоперидола (0,1 мг/кг) мышам C57BL/6 с паркинсоническим синдромом, индуцированным нейротоксином МФТП, установлено, что гимантан (5 мг/кг внутривенно) проявляет выраженные антикаталептический и антиакинетический эффекты.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, гимантан, леводопы, акинезия, дискинезия.

Гимантан, оригинальный отечественный препарат из группы производных адамантана, обладает высокой активностью и широким спектром антипаркинсонических эффектов, доказанными в экспериментах [1, 2, 4, 5, 6, 10].

В пилотном клиническом исследовании показана безопасность и эффективность гимантана в таблетированной лекарственной форме при его приеме в дозе 25 мг в сутки однократно для лечения ранних стадий болезни Паркинсона. Препарат рекомендован для дальнейшего клинического изучения, в том числе на поздних стадиях болезни Паркинсона [7].

Леводопы остается «золотым стандартом» симптоматического лечения болезни Паркинсона и назначается практически всем больным с поздними стадиями заболевания. Однако добиться полного восстановления моторных функций часто не удается, развиваются осложнения – различные типы дискинезий, требую-

щие изменения дозы леводопы, режима введения и добавления других препаратов [8, 9, 11]. Одним из самых тяжелых проявлений декомпенсации на поздних стадиях заболевания являются акинетические кризы, для купирования которых требуется парентеральное введение противопаркинсонических препаратов. В настоящее время в клинической практике существует только один препарат для инфузионного введения – производное адамантана – амантадина сульфат (ПК-Мерц) [12].

В ранее проведенных экспериментах показано, что совместное хроническое введение гимантана с леводопой не приводит к усилению побочного эффекта леводопы, и даже снижает скорость развития и тяжесть леводопы-индуцированных дискинезий (собственные данные – статья принята в печать). **Целью** настоящего исследования явилась оценка антикаталептического эффекта гимантана

при различных путях введения и возможности потенцирования терапевтического эффекта леводопы.

Материалы и методы

Исследования проводили на нелинейных белых мышах-самцах массой 25–30 г, мышах-самцах линии C57BL/6 массой 22–26 г и белых нелинейных крысах-самках массой 200–250 г (питомник «Столбовая» Московская область). В каждой группе было по 10 животных.

Каталепсию моделировали внутрибрюшинным введением нейролептика галоперидола мышам и крысам в дозе 1 мг/кг. В другой серии экспериментов галоперидол в дозе 0,1 мг/кг вводили мышам линии C57BL/6 через 48 ч после введения нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорида (МФТП) (30 мг/кг, внутрибрюшинно).

Исследуемые вещества – гимантан, мидантан (НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, Россия) и леводопу (Sigma-Aldrich, USA) – вводили одновременно с галоперидолом (Гедеон Рихтер, Венгрия). Животные контрольной группы получали дистиллированную воду.

У мышей антагонизм с галоперидолом оценивали по способности исследуемых веществ уменьшать выраженность каталептического состояния животных. Продолжительность каталепсии оценивали через 60 и 120 мин после введения веществ. Животное располагали у горизонтального стержня диаметром 0,5 см, закрепленного на высоте 4 см так, чтобы мышь опиралась на стержень обеими передними лапками (поза лектора). Попытки придать животному нужное положение продолжали не более 1 мин. Регистрировали время пребывания в неподвижном состоянии – «позе лектора» – в течение 2 мин.

Антикаталептические свойства изучаемых препаратов у крыс оценивали по методике Mogurgo и градуированной и альтернативной форме через 60 и 120 мин после введения галоперидола с использованием теста «параллельные стенки» и теста «ступеньки» [3]. При оценке на «параллельных стенках» передние и задние конечности животного помещали таким образом, чтобы спина животного была прямой. Попытки придать животному нужную позу продолжались не более 1 мин. Фиксировали время пребывания крысы в неподвижном состоянии. Оценивали общую продолжительность каталепсии, а также процент животных с каталепсией в группе. При альтернативном учете критерием наличия каталептического состояния считали пребывание в неподвижном состоянии на стенках в течение 45 сек.

При оценке каталепсии на ступеньках (высотой 8, 5 и 3 см) измеряли продолжительность застывания животного в непривычной позе, которую оценивали в баллах. Животное усаживали на задние лапки так, чтобы опираясь передней лапкой на ступеньку, крыса держала бы другую лапку без опоры. Удержание лапки в течение 40 и более с на верхней ступеньке оценивалось в 3 балла, на средней ступеньке – в 2 балла и на нижней – в 1 балл. Эти действия попеременно проводили с обеими передними лапами животного. Попытки усадить животное в нужную позу продолжали не более 1 мин. Далее считали сумму баллов для левой и правой лапы. Степень каталепсии оценивали в баллах по группе.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Данные представлены в виде Mean±SEM.

Таблица 1

Влияние гимантана при разных путях введения на каталепсию, вызванную галоперидолом

Вещество, доза, способ введения	Продолжительность застывания мышей в позе «лектора» после введения галоперидола, с	
	Через 60 мин	Через 120 мин
Контроль интактный, дист. вода	5,27±3,08	5,67±3,25
Галоперидол 1 мг/кг в/б + дист. вода	95,83±8,98#	108,33±9,01#
Гимантан 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	40,0±3,54*	69,1±7,14*
Гимантан 5 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	64,0±3,71*	78,5±5,11*
Гимантан 5 мг/кг в/в + Галоперидол 1 мг/кг в/б	42,0±3,21*	61,0±6,12*
Мидантан 20 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	61,33±14,12*	95,0±13,29

Примечание: # – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Контроль интактный»;
* – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой, которой вводили только галоперидол.

Таблица 2

Влияние гимантана на каталепсию у мышей C57BL/6 с паркинсоническим синдромом, вызванным введением нейротоксина МФТП

Вещества, дозы, способ введения	Продолжительность застывания мышей в позе «лектора» после введения малой дозы галоперидола, с	
	Через 60 мин	Через 120 мин
Контроль интактный, дист. вода.	2,6±1,67	23,6±11,75
МФТП 30 мг/кг в/б + Галоперидол 0,1 мг/кг в/б	14,8±4,41#	96,5±13,67#
Гимантан 5 мг/кг в/в + МФТП 30 мг/кг в/б + Галоперидол 0,1 мг/кг в/б	9,6±5,68	34,4±21,69*

Примечание: # – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Контроль интактный»,
* – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «МФТП + Галоперидол».

Результаты и их обсуждение

Галоперидол в дозе 1 мг/кг внутрибрюшинно вызывал каталепсию у 100% мышей. Гимантан в дозе 10 мг/кг (в/б) значительно снижал каталептогенный эффект галоперидола: время нахождения мышей в неудобной позе сократилось в 2,4 и в 1,57 раза через 1 ч и 2 ч после введения нейролептика соответственно. Эффект гимантана в дозе 5 мг/кг (в/б) был достоверно ниже. Гимантан при внутривенном введении в дозе 5 мг/кг проявлял выраженное антикаталептическое действие, равное эффекту препарата в дозе 10 мг/кг при внутрибрюшинном введении. Через 1 ч после введения галоперидола эффект гимантана в дозе 10 мг/кг (в/б) был сопоставим с эффектом мидантана в дозе 20 мг/кг (в/б); через 2 ч антикаталептический эффект мидантана не регистрировался, а эффект гимантана оставался достоверным (табл. 1).

В следующем эксперименте моделировали акинетическое состояние у мышей линии C57BL/6 введением малой дозы галоперидола на фоне сформировавшегося МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома [16]. Введение галоперидола в дозе 0,1 мг/кг через 48 ч после МФТП приводило к развитию выраженной каталепсии у всех животных. Гимантан при внутривенном введении в дозе 5 мг/кг оказывал выраженный антиакинетический эффект, что характеризовалось достоверным сокращением времени застывания мышей в позе «лектора». Эффект гимантана был более выраженным через 2 ч после введения галоперидола (табл. 2).

Полученные результаты подтверждают выраженный антикаталептический

и антиакинетический эффект гимантана при внутривенном введении в дозе 5 мг/кг.

Оценка эффекта гимантана в комбинации с леводопой в низкой дозе (10 мг/кг) проводилась на крысах с использованием двух методик оценки каталепсии [3]. По данным ранее проведенных исследований леводопа даже в дозе 100 мг/кг не проявляла 100% эффект на модели галоперидоловой каталепсии [1].

В методике «параллельные стенки» гимантан в дозе 10 мг/кг в/б достоверно снижал продолжительность каталепсии у крыс через 60 мин. после введения галоперидола (1 мг/кг в/б). После введения леводопы (10 мг/кг в/б) зафиксирована лишь тенденция снижения времени застывания животных в неудобной позе и уменьшения числа животных с максимально выраженной каталепсией. Совместное введение гимантана (10 мг/кг в/б) и леводопы (10 мг/кг в/б) приводило к значительному усилению антикаталептического эффекта, продолжительность каталепсии была достоверно ниже как через 60, так и 120 мин после введения галоперидола по сравнению с группой, получавшей только галоперидол. На фоне комбинации гимантана с леводопой ни у одного животного не отмечалось каталепсии максимальной продолжительности, равной 120 с (табл. 3).

В методике оценки продолжительности застывания крыс в непривычной позе на ступеньках также зарегистрирован достоверный антикаталептический эффект гимантана (10 мг/кг) через 60 и 120 мин. после галоперидола, отсутствие достоверного эффекта леводопы (10 мг/кг) и значительное усиление антикаталептической активности при применении комбинации двух препаратов

Таблица 3
Антикаталептическое действие гимантана, леводопы, комбинации гимантана и леводопы у крыс в методике «параллельные стенки»

Группа, доза, способ введения	Продолжительность катаlepsии, с		% крыс с катаlepsией (120 с)	
	Время после введения галоперидола			
	60 мин	120 мин	60 мин	120 мин
Галоперидол 1 мг/кг в/б	74,78±18,0	103,0±12,08	55,56	77,78
Гимантан 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	19,67±9,89*	75,33±21,28	0	50
Леводопа, 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	36,67±18,03	69,17±23,05	16,67	50
Гимантан 10 мг/кг в/б + Леводопа 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	6,33±3,43**	16,83±3,51**	0	0

Примечание: * – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Галоперидол»,
^ – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Гимантан+Галоперидол»,
– P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Леводопа+Галоперидол».

Таблица 4
Влияние гимантана, леводопы, совместного введения гимантана и леводопы на продолжительность застывания крыс в тесте «ступеньки» после введения галоперидола

Группы (доза)	Оценка катаlepsии в баллах	
	через 60 мин	через 120 мин
Галоперидол 1 мг/кг в/б	5,5±0,34	5,83±0,17
Гимантан 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	1,33±0,99*	2,83±1,05*
Леводопа, 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	2,83±1,28	3,67±1,2
Гимантан 10 мг/кг в/б + Леводопа 10 мг/кг в/б + Галоперидол 1 мг/кг в/б	0,33±0,33*	0±0**

Примечание: * – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Галоперидол»,
^ – P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Гимантан+Галоперидол»,
– P<0,05 достоверность различий в сравнении с группой «Леводопа+Галоперидол».

– леводопы и гимантана, особенно выраженное через 120 мин после введения галоперидола (табл. 4).

Катаlepsия, вызываемая нейролептиками, описывается как состояние, включающее в себя компоненты акинезии и мышечной ригидности, напоминающее симптоматику паркинсонического синдрома [15]. В этом состоянии нейронные пути головного мозга, вовлеченные в осуществление произвольных движений, оказываются неактивными, в противоположность системам, обеспечивающим в контроль рефлекторного положения тела и поддержания равновесия [16]. Эта модель не отражает развивающиеся при паркинсонизме дегенеративные нарушения дофаминергических нейронов, однако позволяет судить о выраженности антикаталептической и антиакинетической активности изучаемых соединений.

В результате проведенных экспериментов показано, что гимантан при внутрибрюшинном и внутривенном введении обладает выраженным антикаталептогенным действием на модели галоперидоловой катаlepsии, но при этом эффект внутривенного применения гимантана оказался выше, чем внутрибрюшинного. Полученные результаты указывают на то, что гимантан при внутривенном введении может применяться в меньшей дозе, и это необходимо учесть при разработке инъекционной лекарственной формы препарата.

К развитию акинетических кризов при болезни Паркинсона могут приводить факторы, связанные с нарушением программы фармакотерапии, в частности назначение пациентам препаратов, блокирующих дофаминовые рецепторы [13]. Подобное состояние было смоделировано введением галоперидола в малой дозе (не приводящей к развитию ката-

лепсии у интактных животных) мышам C57BL/6 с паркинсоническим синдромом, индуцированным однократным введением нейротоксина МФТП [17]. Малая доза галоперидола в условиях этой модели вызывала развитие выраженной катаlepsии. На этой модели гимантан при внутривенном введении эффективно устранял акинетическое состояние.

Полученные в нашем исследовании результаты позволяют предполагать эффективность гимантана при внутривенном введении при акинезиях и обосновывают целесообразность разработки новой лекарственной формы гимантана для внутривенного введения.

Лечение поздних стадий болезни Паркинсона обязательно включает препараты леводопы. Однако развитие двигательных осложнений при терапии леводопой часто требует изменений режима ее применения и снижения ее дозы. При этом возможно снижение терапевтического эффекта препарата. Комбинация с другими противопаркинсоническими препаратами в идеале должна приводить к усилению основных эффектов без усиления побочного нежелательного действия. Совместно с леводопой обычно назначаются агонисты дофаминовых рецепторов, которые по разным данным могут оказывать как положительный эффект, так и сами вызывать дискинезии [11, 14]. Как было показано ранее, гимантан не усиливает и даже снижает скорость развития и тяжесть индуцированных леводопой дискинезий (собственные данные – статья принята в печать). В настоящем исследовании установлено, что совместное применение гимантана и леводопы приводит к потенцированию антикаталептического эффекта обоих препаратов. Таким образом, полученный результат свидетельствует в пользу потенциальной

эффективности использования леводопы в комбинации с гимантаном для лечения пациентов с поздними стадиями болезни Паркинсона. При дальнейшем клиническом изучении гимантана целесообразно провести оценку его эффективности в составе комбинированной терапии у пациентов с поздними стадиями заболевания.

Выводы

1. На модели галоперидоловой катаlepsии у мышей новый противопаркинсонический препарат гимантан (5 мг/кг внутривенно) оказывает выраженный антикатаlepsический эффект.

2. На модели акинетического состояния, вызванного введением низкой дозы галоперидола (0,1 мг/кг) животным с паркинсоническим синдромом, индуцированным нейротоксином МФТП, гимантан (5 мг/кг внутривенно) проявляет выраженные антикатаlepsический и антиакинетический эффекты.

3. Комбинированное применение гимантана с леводопой приводит к усилению эффекта леводопы.

Список литературы

1. Вальдман Е.А. Фармакологическая активность нового производного адамантана - потенциального противопаркинсонического препарата при субхроническом введении // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2000. № 5. С. 3-6.
2. Вальдман Е.А., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Противопаркинсоническая активность нового производного адамантана // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1999. № 4. С. 3-7.
3. Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению антипаркинсониче-

ско активности фармакологических веществ // В кн.: Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ. - М.: Медицина. 2005. С. 295-307.

4. Воронина Т.А., Авакян Г.Н., Катунина Е.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н., Самойлова Е.В. Сравнительное изучение нейрофизиологических эффектов препаратов группы адамантана на экспериментальной модели паркинсонизма // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. № 2. С. 16-18.
5. Елшанская М.В., Соболевский А.И., Вальдман Е.А., Ходоров Б.И. Взаимодействие потенциального противопаркинсонического средства производного адамантана с ионными каналами глутаматных рецепторов NMDA подтипа // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001. 64 (1). С. 18-21.
6. Капица И.Г., Неробкова Л.Н., Вальдман Е.А., Воронина Т.А., Шаркова Л.М. Электрофизиологический анализ эффектов гимантана на модели паркинсонического синдрома, вызванного нейротоксином МФП+ // Психофармакология и биологическая наркология. 2005. № 1. С. 822-827.
7. Катунина Е.А., Петрухова А.В., Авакян Г.Н., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Саядян Х.С. Возможности применения гимантана при лечении болезни Паркинсона // Журнал Неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2008. 108(6). С. 24-2.
8. Катценшлагер Р., Лиз Э.Дж. Лечение болезни паркинсона: леводопа - препарат первого выбора // J Neurol. 2002. № 249 (Suppl 2): II/19-II/24.
9. Левин О.С. Леводопа и леводопо-

фобия // Неврологический журнал. 2010. № 4. С. 4-11.

10. Неробкова Л.Н., Е.А.Вальдман, Воронина Т.А., Маркина Н.В., Шаркова Л.М. Влияние нового производного адамантана А-7 на проявления паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина МФТП // Эксперим. и клинич. Фармакология. 2000. 63(3). С. 3-6.
11. Преображенская И.С. Анализ возможности развития дискинезии у пациентов с болезнью Паркинсона при назначении агонистов дофамина пролонгированного действия // Русский медицинский журнал. 2010. № 16. С. 992-997.
12. Федорова Н.В., Грачев И.С. Леводопиндуцированные дискинезии при болезни Паркинсона: эффективность амантиада сульфата // Неврологический журнал. 2009. № 1. С. 43-48.
13. Фёдорова Н.В., Чигирь И.П., Кулуа Т.К. Алгоритм лечения развернутых стадий болезни Паркинсона // Атмос-

фера. Нервные болезни. 2006. № 1. С. 20-26.

14. Brodsky M.A., Park B.S., Nutt J.G. Effects of dopamine agonist on the pharmacodynamics of levodopa in Parkinson disease // Arch. Neurol. 2010. 67 (10). P. 27-32.
15. Sanberg P.R. Haloperidol-induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors // Nature. 1980. 284. P. 472-473.
16. Wiecki T.V., Riedinger K., von Ameln-Mayerhofer A., Schmidt W.J., Frank M.J. A neurocomputational account of catalepsy sensitization induced by D2 receptor blockade in rats: context dependency, extinction, and renewal // Psychopharmacology (Berl). 2009. 204(2). P. 265-277.
17. Weihmuller F.B., Hadjiconstantinou M., Bruno J.P., Neff N.H. Administration of GM1 ganglioside eliminates neuroleptic-induced sensorimotor deficits in MPTP-treated mice // Neuroscience Letters. 1988. 92 (2). P. 207-212.

Study of anticataleptic activity of hemantane using different routs of drug administration and in combination with levodopa

E.A. Ivanova, A.V. Nepoklonov, I.I. Kokshenev, I.G. Kapitsa, T.A. Voronina, E.A. Valdman

Effects of intravenous administration of the novel antiparkinsonian drug hemantane and the combination of hemantane with levodopa were assessed on the model of catalepsy induced by haloperidol in rats. It was shown that catalepsy induced by haloperidol significantly antagonized by intravenous injection of hemantane 5 mg/kg. Combination of hemantane with levodopa increased the anticataleptic activity of levodopa. Akinetic state was induced by low dose of haloperidol (0,1 mg/kg) in C57BL/6 with parkinsonian syndrome induced by neurotoxin MPTP. It was shown that hemantane 5 mg/kg, intravenous, had pronounced antiakinetik and anticataleptic activity on this model.

Key words: Illness of Parkinsona, gimantan, levodopa, akinesia, dyskinesia.